Aus dem Institut für Toxikologie und Embryonal-Pharmakologie (Univ.-Klinikum Chlb.)
und dem Institut für Versuchstierkunde, Versuchstierkrankheiten, Biometrie,
Dokumentation und Versicherungsveterinärmedizin des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Untersuchungen über die postnatale Entwicklung von Mäusen und die Beeinflußung durch eine pränatale Behandlung mit 6-Aminonicotinamid (6-AN)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Ibrahim Chahoud aus Latakia/Syrien Berlin 1978
Journal-Nr. 928

Aus dem Institut für Toxikologie und Embryonal-Pharmakologie (Univ.-Klinikum Chlb.)
und dem Institut für Versuchstierkunde, Versuchstierkrankheiten, Biometrie,
Dokumentation und Versicherungsveterinärmedizin des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Untersuchungen über die postnatale Entwicklung von Mäusen und die Beeinflußung durch eine pränatale Behandlung mit 6-Aminonicotinamid (6-AN)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Ibrahim Chahoud aus Latakia/Syrien Berlin 1978
Journal-Nr. 928

Gedruckt mit Genehmigung

des Fachbereiches Veterinärmedizin

der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR:	Prof. Dr. H.-H. Frey
Referent:	Prof. Dr. D. Krause
Korreferent:	Prof. Dr. D. Neubert

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 18. Januar 1978

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	3
3.	KURZE VORBEMERKUNG ÜBER DIE TERATOGENE WIRKUNG VON 6-AN	4
4.	MATERIAL UND METHODEN	6
4.1.1.	Versuchsreihen	6
4.1.2.	Tiermaterial und Haltungsbedingungen	8
4.1.3.	"timing" der Schwangerschaften	8
4.1.4.	Ammenaufzucht	9
4.1.5.	Behandlung der Versuchstiere	9
4.1.6.	Pränatale Mortalität	11
4.2.	POSTNATALE UNTERSUCHUNGEN	11
4.2.1.	Registrierung der Mortalität	11
4.2.2.	Registrierung der Gewichtsentwicklung	11
4.2.3.	Registrierung der Motilität	12
5.	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	16
5.1.	VORBEMERKUNGEN ZU DEN EIGENEN VERSUCHEN	16
5.2.	WACHSTUM ALS PARAMETER DER POSTNATALEN ENTWICKLUNG	16
5.2.1	Vorbemerkungen	16
5.2.2.	Die Gewichtsentwicklung und der Einfluß der Ammenaufzucht	16
5.2.3.	Gewichtsentwicklung und der Einfluß der Wurfgröße	18

Seite

5.2.4. Wurfgröße, Geburtsgewicht und verschiedene Entwicklungsstadien als Parameter des postnatalen Wachstums 20

5.2.5. Die Gewichtsentwicklung von Jungtieren, die am Tag 14 oder 15 der Gestation in utero mit 6-AN behandelt wurden 22

5.3. POSTNATALE ENTWICKLUNG DER NMRI-MÄUSE 24

5.4. PERINATALE UND POSTNATALE MORTALITÄT 26

5.4.1. Vorbemerkungen 26

5.4.2. Perinatale Mortalität bei Kontrollen 26

5.4.3. Perinatale Mortalität bei Jungtieren, die in utero einer Wirkung von 6-AN ausgesetzt wurden 28

5.5. MESSUNG LOKOMOTORISCHER AKTIVITÄTEN 32

5.5.1 Vorbemerkungen 32

5.5.2. Die circadiane Periodizität von Mäusen als Testobjekt 34

5.5.3. Motilität junger Kontroll-Tiere 35

5.5.4 Motilität erwachsener Tiere unter dem Einfluß von 6-AN 38

5.5.5 Motilität von Jungtieren, deren Mütter im letzten Drittel der Schwangerschaft mit 6-AN behandelt wurden 45

6. SCHLUßFOLGERUNGEN 50

7. ZUSAMMENFASSUNG 54

8. LITERATUR 58

1. EINLEITUNG

Bisher konzentrierten sich die meisten teratologischen Tierversuche auf eine Untersuchung der embyotoxischen oder fetotoxischen Wirkungen in der pränatalen Phase. Die Feten werden dabei im allgemeinen kurz vor der Geburt auf embryoletale und grobe teratogene Effekte sowie auf Wachstumsretardierungen untersucht.

Diese Art toxikologischer Untersuchung vernachlässigt jedoch die Möglichkeit, daß Abnormitäten auftreten, die zwar in utero induziert worden sind, sich aber erst postnatal manifestieren. Es kann davon ausgegangen werden, daß es sich bei solchen Abnormalitäten meist um funktionelle Defekte handelt.

Perinatale Mortalität oder eine gestörte geistige Entwicklung oder Motilitätsstörungen sind als postnatale Komplikationen aus der Humanmedizin durchaus bekannt. Unklar ist jedoch in den meisten Fällen die Ursache. In welchem Prozentsatz derartige pathologische Ereignisse durch eine pränatale Medikamenteneinnahme oder durch andere Umwelteinflüsse ausgelöst werden können, ist zur Zeit gar nicht zu übersehen. Ähnliches gilt auch für das Problem, ob auch andere funktionelle Abnormitäten - wie z.B. Störungen in hormonellen Systemen oder im Immunsystem, aber auch pathologische Leber- oder Nierenfunktionen - pränatal durch Pharmaka induziert werden können. In den letzten Jahren ist darüberhinaus beim Menschen nachgewiesen worden,

daß eine transplacentare Carcinogenese möglich ist. In den USA sind - etwa 17 Jahre nach der Geburt - bei den Nachkommen von Frauen, die während der Schwangerschaft mit Diäthylstilböstrol behandelt wurden, sogenannte "clear-cell"-Carcinome der Scheide aufgetreten. (HERBST et al. 1972)

Die experimentelle Teratologie hat sich bisher nur wenig mit diesen Problemkomplexen auseinandergesetzt. Es gibt jedoch einige Anhaltspunkte, daß solche Schädigungen, die pränatal gesetzt werden, sich erst postnatal manifestieren. Ihre Erfassung ist auch experimentell grundsätzlich möglich. So konnten GROLLMANN und GROLLMANN (1962) eine bleibende Hypertonie bei Nachkommen von Versuchstieren beobachten, die während der Schwangerschaft mit Steroiden oder diätisch behandelt worden waren. Auch morphologische Zeichen einer Leberschädigung konnten bei den Nachkommen von Versuchstieren nachgewiesen werden, die während der Schwangerschaft mit der "Umwelt-Chemikalie" Methyl-Quecksilber behandelt wurden (WARE et al. 1974). Mit der gleichen Substanz konnten auch Verhaltensabnormitäten bei den Nachkommen beobachtet werden, wenn diese in utero der Wirkung der Quecksilber-Verbindung ausgesetzt wurden (SPYKER und SPARBER, 1971 - SPYKER et al. 1972). Besonders soll auch noch auf Arbeiten von LANGMANN et al.(1975) sowie CLARK et al. (1970) verwiesen werden, die einige Studien über das Verhalten von Tieren durchgeführt haben, die in utero der Wirkung verschiedener Substanzen ausgesetzt waren.

Aus der Humanmedizin sind noch zwei weitere Probleme bekannt, zu denen bisher nur wenige tierexperimentelle Modelluntersuchungen existieren: das Problem der perinatalen Mortalität

und die Frage nach einer möglichen Beziehung zu Pharmakon-Einwirkungen während der Schwangerschaft und das Problem der Entwicklung von untergewichtigen Kindern. Umfangreichere tierexperimentelle Untersuchungen liegen bisher nur zur Gehirnentwicklung von retardierten Versuchstieren vor (DOBBING, 1968).

2. FRAGESTELLUNG DER ARBEIT

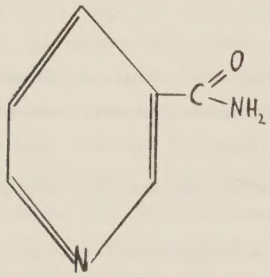
Das Ziel dieser Arbeit war die genauere Analyse einiger pränatal induzierter Schädigungen. Folgende Parameter wurden ausgewählt:

1.) Die pränatale Wachstumsretardierung und ihre mögliche postnatale Reversibilität
2.) Die postnatale Mortalität in Abhängigkeit vom Zeitpunkt einer pränatalen Pharmakon-Einwirkung
3.) Die Analyse der Motilität postnatal und der mögliche Einfluß einer pränatalen Behandlung.

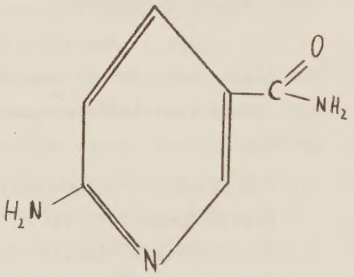
Es war die Aufgabe der in der vorliegenden Arbeit zusammengefaßten Untersuchungen zunächst einmal die normale postnatale Entwicklung für den von uns benutzten Mäusestamm (NMRI) zu analysieren. Dann sollte der Einfluß einer Modellsubstanz auf diese Parameter untersucht werden.

3. KURZE VORBEMERKUNG ÜBER DIE TERATOGENE WIRKUNG VON 6 - AMINONICOTINAMID (6 - AN)

Der Antimetabolit 6 - Aminonicotinamid (6 - AN) ist ein Derivat des Vitamins Nicotinsäureamid. Die Substanz ist also eigentlich ein "Antivitamin". Sie besitzt keine therapeutische Bedeutung, sondern dient nur als Modellsubstanz zur Erzeugung bestimmter Defekte im Tierversuch.



Nicotinamid



6-Aminonicotinamid

Die Wirkung von 6 - AN wurde in vieler Hinsicht untersucht. Nach Gabe von 6 - AN fand man Vergiftungssymptome bei Ratten und anderen Säugetieren (JOHNSON und MCCOLL, 1955; BRUNNEMANN und COPER, 1963; HERKEN, 1968). Das wichtigste toxische Symptom besteht in einer schrittweisen Lähmung der hinteren Extremitäten. Weitere Störungen finden sich bei der Temperaturregulation, im Kohlenhydratstoffwechsel (COPER et al. 1966 - HERKEN and LANGE, 1969).

Die teratogene Wirkung von 6 - AN untersuchten bereits MURPHY et al. (1957). Ausführlich hat sich CHAMBERLAIN (1966) mit der teratogenen Wirkung dieser Substanz beschäftigt, besonders mit der Auslösung von Gaumenspalten.

6 - AN besitzt wie viele andere teratogene Substanzen eine phasenspezifische Wirkung. Bei den Mäusen kann man durch die Gabe von 6 - AN bis zum Tag 13 1/2 Gaumenspalten erzeugen.

Ausgedehnte biochemische Untersuchungen über die teratogene Wirkung von 6 - AN wurden von BARRACH (1973) durchgeführt. Hier wurde besonders die Aktivität einiger Fermente des oxidativen Teils des Pentose-Phosphat-Weges und die Beeinflussung durch 6 - AN untersucht.

Bei unseren Untersuchungen interessierten wir uns für die Schwangerschaftsphase (Maus) in der 6 - AN keine deutlichen morphologischen Mißbildungen mehr hervorruft - d.h. ab Tag 14 der Schwangerschaft.

Bei adulten Tieren stellten COPER et al. (1966) sowie HERKEN (1969) Untersuchungen zum Mechanismus zentralnervöser Funktionsstörung durch 6 - Aminonicotinamid an.

COPER et al. (1966) stellten fest, daß nach Gabe von 6 - AN die Körpertemperatur erniedrigt und die Evipan - Narkose verlängert wird. Diese Schlafverlängerung ist nach COPER nicht auf den verzögerten Abbau des Hexobarbitals in der Leber zurückzuführen.

Die uns interessierende Fragestellung ist, ob ähnliche Wirkungen wie die bei erwachsenen Tieren beschriebenen Schädigungen im ZNS auch bei den in utero behandelten Jungtieren beobachtet werden können.

4. MATERIAL UND METHODEN

4.1.1. Versuchsreihen

I. Vorversuche:

1. Wachstum von Mäusen bei Ammenaufzucht
1.1 5 Würfe (à 10 Tiere) Aufzucht durch Amme
1.2 5 Würfe (à 10 Tiere) Aufzucht durch Mutter
2. Einfluß von Wurfgröße auf Wurfgewicht
(Stichproben aus Bestand)
Wurfgröße 6 (bis) 12, je 4 - 6 Würfe
3. Pränatale Mortalität (am 18. Tag der Trächtigkeit)
3.1 unbehandelte Muttertiere (100 Tiere)
3.2 Behandlung mit 6-AN am Tag 14 (20 Tiere)
3.3 Behandlung mit 6-AN am Tag 15 (20 Tiere)
4. Motilitätsmessung
4.1 Motilität von Absatztieren aus Bestand
(5 Würfe à 7 Tiere)

II. Versuche:

1. Wurfgröße und Geburtsgewicht bei NMRI-Mäusen
nach Behandlung der Muttertiere mit 6-AN am
14. bzw. 15. Tag der Trächtigkeit
1.1 Behandlung am Tag 14 (22 Würfe)
1.2 Behandlung am Tag 15 (23 Würfe)
1.3 keine Behandlung (23 Würfe)
2. Einfluß einer 6-AN-Behandlung der Muttertiere
auf die Gewichtsentwicklung der Jungtiere
2.1 Behandlung am Tag 14 (4 Würfe à 7(aus II. 1.1))
2.2 Behandlung am Tag 15 (4 Würfe à 7 (aus II. 1.1))
2.3 keine Behandlung (10 Würfe à 7)
3. "Augenöffnen" wurde registriert bei den Gruppen :
2.1; 2.2; 2.3.
4. Mortalität postnatal
4.1 Behandlung der Mutter, Tag 14 (149 Tiere = 22
Würfe, II. 1.1)
4.1 Behandlung der Mutter, Tag 15 (178 Tiere = 23
Würfe,II.1.2)

4.3 Kontrolle zu 4.1 (231 Tiere aus dem Bestand)
4.2 (209 Tiere aus dem Bestand)
440 Tiere Tab.

5. Motilität

5.1 Einfluß der 6-AN-Behandlung auf die Motilität trächtiger Mäuse

5.1.1. Behandlung am Tag 14 (7 Tiere)

5.1.2 keine Behandlung (7 Tiere)

5.2 Motilität von Jungtieren im Absatzalter, deren Mütter während der Trächtigkeit mit 6-AN behandelt wurden

5.2.1 4 Würfe à 7 Tiere (Mutterbehandlung am Tag 15) aus II.2.2

5.2.2 5 Würfe à 7 Tiere (keine Behandlung der Mutter) aus II.2.3

4.1.2. Tiermaterial und Haltungsbedingungen

Für die Versuche wurden NMRI - Mäuse von der Firma Ivannovas (Kiesselegg) im Gewicht von 29g bis 32g benutzt. Die Haltung während der Versuche erfolgte in einem Tierraum isoliert, jedoch unter konventionellen Haltungsbedingungen. Der Herkunftsbestand der Versuchstiere ist genetisch als Auszucht definiert.

Die Haltungsbedingungen entsprachen den Empfehlungen der Gesellschaft für Versuchstierkunde (1971). Die Tiere wurden in Makrolonkäfigen Typ III auf Weichholzgranulat-Einstreu gehalten. Wasser und Pelletfutter (Altromin 1324) wurden ad libitum gereicht. Die Temperatur im Tierraum lag bei 22 ± 1° C bei einer Luftfeuchtigkeit zwischen 45 und 55%.

Der Licht-Dunkel-Rhythmus betrug 11 : 13 Stunden, so daß es von 9^{00} - 20^{00} hell und von 20^{00} - 9^{00} Uhr dunkel war. Neu gelieferte Tiere wurden mindestens zwei Wochen lang diesem Rhythmus angepaßt.

Notwendige Manipulationen, z.B. Einstreuen, erfolgten zweimal wöchentlich.

4.1.3. "timing der Schwangerschaften

Zur Paarung wurden jeweils fünf virginelle Weibchen zu einem Männchen in einen Typ II Makrolonkäfig in der Zeit von 6.30 bis 9.30 Uhr gesetzt. Am Vaginalpfropf wird festgestellt, ob ein Coitus stattgefunden hat. Die 24-Stunden-Periode vom Auffinden des Vaginalpfropfs bis 9^{00} Uhr des folgenden Tages wird als "Tag 0" bezeichnet.

Der NMRI-Stamm wirft in der Nacht von Tag 18 zu Tag 19 der Schwangerschaft. Die auf die Geburt folgenden 24 Stunden sind der 1. postnatale Tag. Die Tiere sind in der Zeit von 24 Stunden bis 48 Stunden nach der Geburt "einen Tag alt" (zweiter postnataler Tag).

4.1.4. Ammenaufzucht

(Versuchsreihe 1.1.)

Wenn ein schwangeres Tier im späten Stadium der Schwangerschaft mit embryotoxischen Substanzen behandelt wird, kann ein maternaler Defekt eine abnormale perinatale und postnatale Entwicklung der Nachkommen verursachen. Dies kann auf eine Änderung im Geburtsprozeß, in der Laktation oder auf andere Gründe zurückzuführen sein. In den Vorversuchen wurde der Einfluß der Aufzucht durch Ammen auf Gewichtsentwicklung und Mortalität überprüft.

In den Versuchen mit 6-AN wurde, um maternale Defekte von solchen zu unterscheiden, die im Fetus oder Neugeborenen selbst entstanden sind, routinemäßig eine Versuchsanordnung benutzt, bei der die Hälfte der behandelten Muttertiere nach der Geburt ausgetauscht wurden mit normalen nicht behandelten Muttertieren (Versuchsreihen II 2.1, 2.2, 2.3).

Auf diese Art und Weise erhielten wir bei der Einbeziehung der Kontrollen bei jeder Untersuchungsserie vier Gruppen (s. Abb. 1):

1.) Normale unbehandelte Muttertiere mit ihren eigenen unbehandelten Jungtieren (Nn),
2.) unbehandelte Muttertiere mit in utero behandelten Jungtieren (Nt),
3.) behandelte Muttertiere mit unbehandelten Jungtieren (Tn),
4.) behandelte Muttertiere mit ihren Jungtieren (Tt).

4.1.5 Behandlung der Versuchstiere

(Versuchsreihen: 1.3.2; 3.3 und II.2.1;2.2 ; 5.1)
Die Tiere wurden am Tag 14 oder 15 der Schwangerschaft subcutan mit 10mg/kg 6-AN einmalig um 11^{00} Uhr behandelt. Bis Tag 17 der Schwangerschaft wurden die schwangeren Tiere in einem

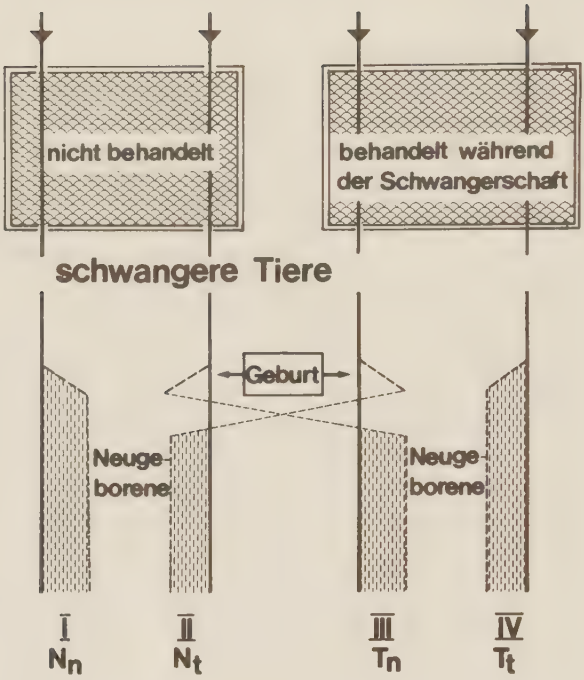


Abb. 1:

Schematische Darstellung der Versuchsanordnung, die routinemäßig angewandt wurde bei der Auswertung von pränatal induzierten Defekten, die sich erst postnatal manifestieren.

Typ III Käfig zusammengehalten; danach wurden die Tiere einzeln in einen Makrolonkäfig Typ II gesetzt. Das Wiegen der Muttertiere zur Kontrolle der Gravidität wurde täglich zur gleichen Zeit durchgeführt.

4.1.6 Pränatale Mortalität

(Versuchsreihe: I.3)
Die Muttertiere wurden am Tag 14 bzw. 15 der Trächtigkeit mit 10mg /kg 6-AN s.c. behandelt. Bei der Sectio am Tag 18 der Schwangerschaft konnte keine gesteigerte Mißbildungs- bzw. Fetomortalitätsrate gegenüber der Kontrolle festgestellt werden. Dies stimmt mit den Ergebnissen von ZENS (1975) überein.

4.2. POSTNATALE UNTERSUCHUNGEN

4.2.1 Registrierung der Mortalität

(Versuchsreihe: II.4)
Am Tag 19 der Schwangerschaft - dem Tag der Geburt - wurde die Wurfgröße und das Gewicht der jeweiligen Würfe festgestellt, sowie der Umtausch der Muttertiere vorgenommen. Die Sterblichkeit wurde dann täglich um 10^{00} Uhr registriert.
Die Jungtiere wurden im Alter von 22 Tagen von der Mutter abgesetzt.

4.2.2 Registrierung der Gewichtsentwicklung

(Versuchsreihen: I.1; 2 und II.2)
Zur Beurteilung der Gewichtsentwicklung wurden jeweils die Tiere eines Wurfes zusammen gewogen. Dies ist technisch einfacher und verringert bei der benutzten Tierwaage (Firma Sauter Typ K800) den methodischen Wägefehler. Die Auswertung der Gewichtsentwicklung erfolgte stets nach Wurfgrößen getrennt. Mittelwerte und Streuung wurden nur aus Würfen mit gleicher Tierzahl berechnet.

4.2.3. Registrierung der Motilität
(Versuchsreihen: I.4 und II.5)

Die Bewegungsintensität bzw. -häufigkeit wurde ebenfalls jeweils von einem ganzen Wurf gemessen. Dieses Vorgehen bringt natürlich Vor- und Nachteile mit sich. Als Nachteil bei dieser Versuchsanordnung mag gelten, daß sich Veränderungen bei einem einzelnen Tier nur schlecht abzeichnen. Darüberhinaus kann eine abnorme Motilität eines einzelnen Tieres nicht diskriminiert werden.

Wir beabsichtigten jedoch auf jeden Fall, die Beobachtung der Motilität auf eine 24 - Stunden - Periode auszudehnen, um Störungen circadianer Rhythmen mit zu erfassen. Damit ist eine Registrierung der Motilität von Einzeltieren kaum möglich.

Die Motilität wurde jeweils an Würfen von sieben Tieren untersucht. Kurz nach dem Absetzen vom Muttertier erfolgten die Versuchsreihen (Tag 23 - 29 postnatal).

Benutzte Apparatur: Zur Messung der Motilität benutzten wir das Gerät ANIMEX DSE der Firma LKB - Farad, Stockholm.

Dieses Gerät benutzt die Sensoreigenschaften induktiver Kreise und bietet deshalb folgende Eigenschaften bzw. Vorteile:

1.) Die Tiere bleiben während der Messung der Motilität in ihrem gewohnten Käfig. Die Oberfläche des Instruments beträgt 510 x 410 mm, d.h. jede übliche Käfiggröße kann verwendet werden.
2.) Die Tiere können während des Versuchs normal versorgt werden, da die Meßergebnisse durch die Verunreinigung des Käfigbodens mit Urin, Kot etc. nicht beeinträchtigt werden.
3.) Der Animex - Apparat kann Aktivitäten von Einzeltieren oder Tiergruppen registrieren. Bei den Tieren, deren Aktivität selektiv ermittelt werden soll, bringt man am Bauch einen kleinen Ring aus Platin an. (Wir haben in dieser Arbeit von dieser Möglichkeit keinen Gebrauch gemacht.)
4.) Eine Blockierung kann nicht auftreten, weil die Induktions-

spulen nicht auf absolute Werte, sondern auf Veränderungen reagieren, d.h. wenn ein Tier auf einer Sensorspule sitzt und ein zweites Tier in den gleichen Bereich kommt, wird die Bewegung des zweiten Tieres registriert.

Die Apparatur verfügt über sechs Induktionsspulen, die mit einem Kondensator einen Resonanzkreis (Abb. 2) bilden, welcher von einem Oszillatorkreis aufgeladen wird. Kommt ein Tier in die Nähe einer der Spulen oder entfernt es sich aus dem Bereich, so ändert sich der Strom des Resonanzkreises; je nach der eingestellten Sensitivität wird jede Veränderung innerhalb eines der Kreise verstärkt und dient als Signal für die Registrierung.

Bei dem Modell Animex DSE, welches bei unseren Untersuchungen eingesetzt wurde, kann die Art der Tätigkeit oder die Intensität der einzelnen Bewegung etwas differenziert werden, d.h. es können z.B. nur die ausgeprägteren Bewegungen registriert werden und z.B. nicht Zitterbewegungen. Das von uns benutzte Modell besitzt zwei Zählwerke, die über zwei Diskriminatoren zur Ermittlung der Größenordnung von Impulsen verfügen. Jedes Zählwerk kann auf das gewünschte Niveau eingestellt werden.

Durch die sogenannten Einschubeinheiten kann man das Druckintervall bzw. die Zeit der Testperiode steuern. Von uns wurden folgende Schubeinheiten benutzt:

Typ x: Diese Einschubeinheit steuert die Druckintervalle; der Ein - Minuten - Zeitgeber der Haupteinheit ist automatisch ausgeschaltet. Die Zeiten können zwischen einer Sekunde und mehr als zwei Stunden festgelegt werden. Der Zeitgeber enthält IC - Dekaden und Digitalkomparatoren sowie Halbleiter, integrierte Schaltungen und Leuchtdioden für die Zahlanzeige.

Typ Y: Dieser Einschub steuert die Zeit für die ganze Testperiode; eine Minute ist die kleinste Einheit; Vorlaufzeiten bis zum Beginn der Registrierung und Ende der Versuchszeit können bis etwa 150 Stunden festgelegt werden. Nach Ablauf der eingestellten "Vorlaufzeit" werden sämtliche Funktionen

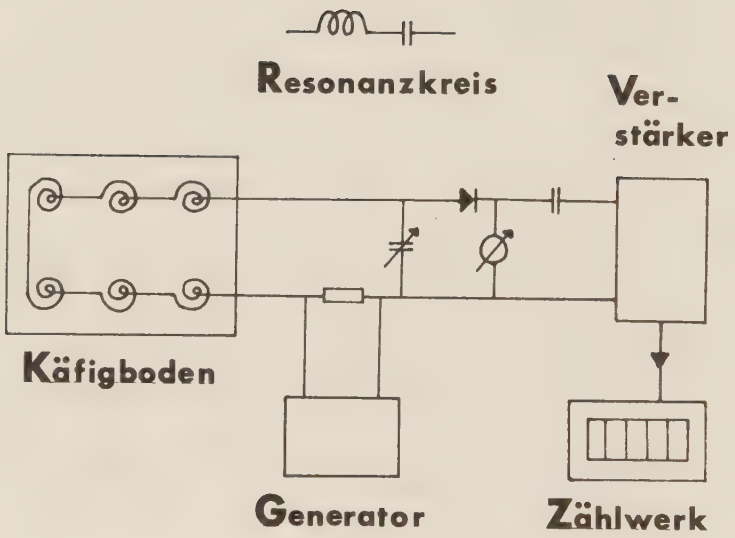


Abb. 2:

Schematische Darstellung des Animex - Apparates

der Haupteinheit und der anderen Einschubeinheiten automatisch ein- und ausgeschaltet. Die im Speicher eventuell noch enthaltenen Impulse werden jedoch noch gezählt.

Die lokomotorische Aktivität der Mäuse wurde von uns stets für 24 Stunden registriert. Die Motilität wurde bei Mäusekollektiven, bestehend aus sieben Tieren, welche in einem II - Typ - Makrolon - Käfig gehalten wurden, gemessen. Durch eine von uns vorgenommene Markierung auf dem Animex - Apparat konnte gewährleistet werden, daß der Käfig stets an der gleichen Stelle aufgesetzt wird. Die Einschubeinheit x wurde so eingestellt, daß die Motilität jede halbe Stunde summiert und gedrückt wurde. Die Einschubeinheit y wurde so eingestellt, daß die Testperiode 24 Stunden dauert und die "Vorlaufzeit" bis zu Beginn der Registrierung eine Stunde ausmacht; Zweck der eingeführten Vorlaufzeit ist die Sicherstellung der Beruhigung der Mäuse. Ferner wurden die Messungen im gleichen Tierstall, wo die Mäuse stets gehalten wurden, vorgenommen. Vor dem Versuchsbeginn wurde der Einstreu erneuert. Es sei an dieser Stelle nochmals hervorgehoben, daß unser Hell - Dunkel - Rhythmus wie folgt festgelegt wurde:

9 - 20 Uhr hell
20 - 9 Uhr dunkel

5. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

5.1. VORBEMERKUNG ZU DEN EIGENEN VERSUCHEN

Die von uns durchgeführten Versuche stellen einige ausgewählte Parameter zur Untersuchung der postnatalen Entwicklung von Mäusen dar. Wir haben diese Versuche unter dem Gesichtspunkt ausgesucht, den subjektiven Faktor, der oft bei postnatalen Versuchen die Ergebnisse beeinflußt, so weit wie möglich auszuschließen. Wir wählten die Modellsubstanz 6-AN, um so möglichst deutliche Effekte hervorzurufen.

5.2. WACHSTUM ALS PARAMETER DER POSTNATALEN ENTWICKLUNG

5.2.1. Vorbemerkungen

Da das Wachstum junger Tiere als ein sehr empfindlicher Parameter zur Beurteilung toxischer Effekte gilt, haben viele Autoren diese Größe als Kriterium benutzt: So wurde von BÄTTIG et al. (1958) die Wechselbeziehung zwischen Wachstum und Anbahnung einer bedingten Fluchtreaktion bei den Ratten untersucht.

WEIHE (1968) bestimmte die Wachstumsrate von Versuchstieren während der Laktationsperiode und setzte sie zur Milchleistung der Tiere in Beziehung. Von WIMER et al. wurde die Korrelation zwischen Wachstum und Wasseraufnahme bei Mäusen untersucht. THEILER (1972) berichtet über den Einfluß verschiedener Umweltfaktoren (z.B. Temperatur) auf die Wachstumsrate bei verschiedenen Stämmen von Versuchstieren. GESTRICH (1972) studierte den Wachstumsverlauf von Mäusen und den Zusammenhang zwischen der Gewichtsentwicklung und der Körperzusammensetzung, wie den prozentualen Anteilen von Fett, Eiweiß, Asche, H_2O u.a., in verschiedenen Altersstufen.

5.2.2. Die Gewichtsentwicklung und der Einfluß der Ammen - Aufzucht

Wie aus unserer Versuchsanordnung hervorgeht (s. Abb. 1), bezweckten wir durch Austausch der Muttertiere maternale Effekte auszuschließen, oder zu erkennen.

Zuvor mußten wir allerdings den Einfluß eines solchen Umtausches auf die Gewichtsentwicklung überprüfen (s. Tab. 1).

Tab. 1:

(Versuchsreihe: 1.1)

Postnatale Gewichtsentwicklung von zwei Kontrollgruppen, Wurfgröße 10 Tiere, jeweils 5 Würfe (angegeben sind $\bar{x} \pm S$ der Gesamt-Wurfgewichte)

	Tag nach der Geburt							
	1	2	4	6	8	12	18	22
Kontrolle, aufgezogen von eigener Mutter	15 ± 0,8	17 ± 0,8	23 ± 1,3	30 ± 1,4	38 ± 2,3	52 ± 3,2	68 ± 3,9	88 ± 8,6
Kontrolle, aufgezogen von Amme	16 ± 0,8	18 ± 0,8	22 ± 0,8	29 ± 1,4	38 ± 2,3	54 ± 3,7	67 ± 5	81 ± 8,7

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß das Auswechseln der Muttertiere möglich ist, ohne daß eine signifikante Beeinträchtigung der Wachstumsentwicklung eintritt.

Dieser Sachverhalt bildet die Voraussetzung für unsere Versuche mit Pharmaka.

5.2.3. Gewichtsentwicklung und der Einfluß der Wurfgröße
(Versuchsreihe: I.2)

Die Gewichtsentwicklung von Jungtieren hängt von einer Reihe von Faktoren ab und sie unterliegt darüberhinaus zahlreichen Einflüssen. Zu den wichtigsten zählen:

- die Tierspezies und die jeweiligen Tierstämme (und damit genetische Faktoren),
- Umweltfaktoren wie z.B. Temperatur, relative Feuchtigkeit, Lichtintensität, Besatzungsdichte,
- Futterzusammensetzung
- Wurfgröße, Geburtsgewicht.

Wir untersuchten unter unseren definierten Bedingungen die Gewichtsentwicklung von 23 unbehandelten NMRI-Würfen bis zum 22. Lebenstag.

Da für unsere Fragestellung zwischen der Gewichtsentwicklung von in utero behandelten und nicht behandelten Jungtieren verglichen werden sollte, prüften wir zunächst den Einfluß der Wurfgröße auf die Gewichtsentwicklung.

Wie aus Abb. 3 hervorgeht, hängt die postnatale Gewichtszunahme insbesondere in der ersten Woche nach der Geburt sehr wesentlich von der Wurfgröße ab.

Die in der Abbildung angegebenen Prozentsätze beziehen sich auf das Gewicht von Neugeborenen mit einer Wurfgröße von 12 Jungen im Vergleich zu einem Wurf mit 6 Jungen (≙ 100%).

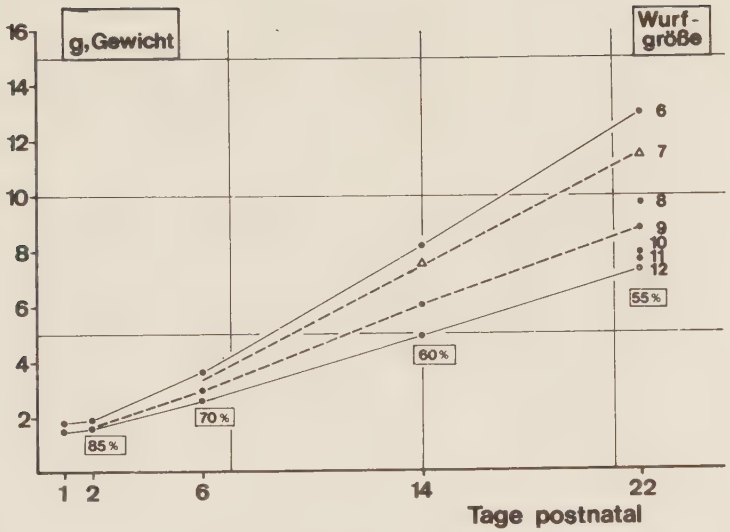


Abb. 3 :

(Versuchsreihe: 1.2)

Postnatale Gewichtszunahme von NMRI-Würfen in Abhängigkeit von der Größe des Wurfes. Für jede Messung wurden 4 bis 6 Würfe von unbehandelten Mäusen herangezogen. Angegeben sind die arithmetischen Mittelwerte. Die Zahlen auf der rechten Seite der Abbildung geben die Wurfgröße an. Die Prozentzahlen beziehen sich auf die Würfe mit 12 Neugeborenen verglichen mit Würfen von 6 Mäusen.

Für die weiteren Versuche konnten also nur Würfe mit der gleichen Anzahl von Jungtieren verglichen werden; dies betrifft die behandelte Gruppe ebenso wie die Kontrollen.

Nach diesen Ergebnissen wird die Beurteilung der postnatalen Gewichtsentwicklung aber dann problematisch, wenn eine erhebliche postnatale Mortalität auftritt. In einem solchen Fall muß ein weiterer Verlauf der Gewichtsentwicklung erwartet werden, der der nun erreichten, geringeren Gewichtsentwicklung entspricht.

5.2.4. Wurfgröße, Geburtsgewicht und verschiedene Entwicklungsstadien als Parameter des postnatalen Wachstums

Jeder Mäusestamm hat für ihn charakteristische Wurfgrößen und von ihnen unabhängige Geburtsgewichte. Tab. 2 und Tab. 3 stellen Wurfgröße und Geburtsgewichte von Tieren, die in utero der Wirkung von 6-AN ausgesetzt waren, dar.
In Tab. 4 werden Wurfgröße und Geburtsgewichte des von uns benutzten NMRI-Stamms aufgezeigt.

Tab. 2 :
(Versuchsreihe: II.1.1)

Wurfgröße und Gesamt-Geburtsgewicht bei 22 mit 10mg /kg 6-AN am Tag 14 der Schwangerschaft behandelten Würfen.

Wurfgröße	Anzahl der Würfe	Geburtsgewicht der Würfe in g
1 Jungtier(e)	4	1
5 "	2	5
6 "	1	6
7 "	4	8 - 9
8 "	4	8 - 9
9 "	3	9 - 12
10 "	3	12 - 14
12 "	1	12

Tab. 3 :

(Versuchsreihe: II.1.2)

Wurfgröße und Gesamt-Geburtsgewicht bei 23 mit 10mg/kg 6-AN am Tag 15 der Schwangerschaft behandelten Würfen

Wurfgröße	Anzahl der Würfe	Geburtsgewicht der Würfe in g
1 Jungtier(e)	2	1
4 "	2	6 - 7
6 "	1	7
7 "	4	8 - 9
8 "	2	8 - 10
9 "	6	9 - 13
10 "	3	12 - 14
11 "	2	14 - 17
12 "	1	15

Tab. 4 :

(Versuchsreihe: II.1.3)

Wurfgröße und Gesamt-Geburtsgewicht bei 23 Kontrollwürfen

Wurfgröße	Anzahl der Würfe	Geburtsgewicht pro Wurf in g
3 Jungtiere	1	6
7 "	1	10
8 "	2	12 - 13
9 "	2	13 - 17
10 "	7	14 - 17
11 "	7	15 - 17
12 "	2	18
13 "	1	19

Zwei Resultate fallen bei der Zusammenstellung der Daten auf:

1) Die Wurfgröße nimmt bei den mit 6 - AN behandelten Tieren ab und
2) das Geburtsgewicht der behandelten Tiere ist, im Vergleich zur Kontrolle vermindert.

5.2.5. Die Gewichtsentwicklung von Jungtieren, die am Tag 14 oder 15 der Gestation in utero mit 6-AN behandelt wurden

(Versuchsreihe II.2.)

Bei unseren Untersuchungen sind wir folgendermaßen vorgegangen:

1) Einschränkung der Beurteilung auf Würfe derselben Größe (7 Jungtiere)
2) Ausschluß sämtlicher Würfe bei denen nach einer Woche noch Tiere verstarben.

Die am Tag 14 oder 15 der Schwangerschaft mit 6 - AN in utero behandelten Jungtiere wurden postnatal weiter untersucht. Zum Zeitpunkt der Geburt zeigen die während der Schwangerschaft behandelten Würfe ein um 30 % reduziertes Geburtsgewicht (s. Tab. 5).

Unter unseren Versuchsbedingungen wird das niedrige Geburtsgewicht innerhalb der ersten zwei Wochen nach der Geburt fast vollständig kompensiert.

Im Alter von 22 Tagen kann keine wesentliche Differenz hinsichtlich Gewicht und Erscheinung zwischen den mit 6 - AN in utero behandelten Jungtieren und den Kontrolltieren festgestellt werden.

	n	Tage post natum				
		1.	2.	6.	14.	22.
Kontrollen	10	12 ± 2	13 ± 2	26 ± 3	53 ± 7	81 ± 11
		% der Kontrolle				
6 - AN am Tag 14	4	71 %	63 %	73 %	91 %	94 %
6 - AN am Tag 15	4	71 %	68 %	92 %	103 %	99 %

Tab. 5 :

Postnatale Gewichtsentwicklung der Würfe (je 7 Jungtiere), die einmalig in utero behandelt wurden.
Das Muttertier erhielt am angegebenen Tag der Trächtigkeit 1omg /kg 6-AN s.c. injiziert. Angegeben sind die mittleren Wurfgewichte ± Standardabweichung.
Verglichen mit der am Tag 15 der Schwangerschaft mit 6-AN behandelten Gruppe brauchen die am Tag 14 in utero behandelten Tiere ca. 1 Woche länger, um die Gewichtsretardierung zu kompensieren.

Bei der Versuchsgruppe , die am Tag 14 der Schwangerschaft mit 6 - AN in utero behandelt wurde, beobachteten wir am zweiten Tag postnatal einen leichten Abfall des Körpergewichtes. Auch bei den am Tag 15 der Schwangerschaft behandelten Tieren nimmt das Körpergewicht der Neugeborenen erst vom dritten Postnataltag zu. Ammenaufzucht hatte auch in dieser Versuchsreihe keinen Einfluß auf die Gewichtsentwicklung.
In der Tab. 5 wird daher zwischen Mutter und Ammengruppen nicht getrennt.

5.3. POSTNATALE ENTWICKLUNG DER NMRI - MÄUSE

(Versuchsreihe: II.3.)

Mäuse wie auch viele andere Nagetiere sind Nesthocker. Sie werden nackt und blind geboren und müssen noch viele Entwicklungsprozesse durchlaufen, die bei den Nestflüchtern bereits vor der Geburt abgeschlossen sind. Diese Entwicklungsprozesse können daher als Parameter für eine Wachtumsverzögerung herangezogen werden (s. Tab. 6).

Das sogenannte Augenöffnen wurde aus folgenden Gründen von uns als Merkmal der Wachstumsentwicklung gewählt:

- das Augenöffnen stellt ein besonders objektives und exakt definierbares Merkmal dar,
- das Augenöffnen liegt zeitlich fast in der Mitte der von uns untersuchten Wachstumsperiode.

Die Augenöffnung trat bei unseren Tieren zwischen dem 13. und 14. Tag auf. Dies stimmt mit Literaturangaben überein.

Bei unseren Versuchsserien konnte kein Unterschied im Zeitpunkt der Augenöffnung zwischen behandelten (6 - AN) Tieren und Kontrollen beobachtet werden.

Tab. 6:

Einige Daten über die postnatale Entwicklung der Maus

Autor	Entwicklungsstadium	Tag nach d. Geburt
E. HAGEMANN (1960)	Durchbrechen der Haare	2. - 3. Tag
	Öffnung des äußeren Ohrgangs	3. "
	Zitzen werden bei jungen Weibchen sichtbar	9. "
	Untere Nagezähne brechen durch	11. - 13. "
	Augenöffnen	12. - 14. "
	Futtersuche	14. - 16. Tag
	Öffnen der Vagina	28. - 49. "
W. H. WEIHE (1968)	Flaum	5. "
	Fell	9. "
	Augenöffnen	14. "
	Futtersuche	18. Tag
K. THEILER (1972)	Öffnung des Gehörgangs	3. "
	Augenöffnen	12. - 14. "
	Vagina	6 Wochen
S. JUNG (1958)	Öffnen des Gehörgangs	4. Tag
	Fell beginnt zu wachsen	4. "
	Die unteren Schneidezähne brechen durch	8. "
	Die Säugezitzen bei Weibchen werden sichtbar	14. "
	Augenöffnen	18. "
	Spermienbildung	27. Tag
	Öffnung der Vagina	39. "

5.4. PERINATALE UND POSTNATALE MORTALITÄT

(Versuchsreihe: 11.4)

5.4.1. Vorbemerkungen

In der perinatalen Forschung ist das Auftreten von unerwartetem Tod eine bekannte Tatsache.

Der Übergang vom intrauterinen zum extrauterinen Leben wie es in der perinatalen Periode auftritt, umfaßt zahlreiche Anpassungsprozesse, und zwar sowohl auf der biochemischen als auch auf der Ebene der Organfunktionen.

Die üblichen teratologischen Auswertungen, die kurz vor der Geburt vorgenommen werden, können nur sehr wenige Hinweise darüber geben, inwieweit der Fetus in der Lage ist, diesen Übergang zu vollziehen.

5.4.2. Perinatale Mortalität bei Kontrollen

Bei dem von uns benutzten NMRI - Stamm kommt es auch "spontan" bei den Kontrollen in einem geringen Prozentsatz zu einer Neugeborenen - Sterblichkeit. Dies ist etwa mit den ebenfalls in einem gewissen Prozentsatz (ca. 4 %) auftretenden Fruchttod zu vergleichen. Innerhalb der ersten Postnatalwoche verstarben bei unseren NMRI - Mäusen 4,6 % der Neugeborenen (s. Tab. 7). Die höchste Mortalitätsrate fiel dabei auf den 1. Tag postnatal. Die Mortalität war nicht signifikant erhöht, wenn eine Ammen - Aufzucht durchgeführt wurde. Eine getrennte Darstellung wurde deshalb nicht vorgenommen.

Tab. 7 :

(Versuchsreihe II.4.3)

Mortalität von NMRI-Mäusen innerhalb der ersten Postnatalwoche (n= 440)

Tag	Mortalität in %
1	1,6
2	0,9
3	0
4	0,7
5	0,5
6	0,5
7	0,2
8	0,2

5.4.3. Perinatale Mortalität von Jungtieren, die in utero einer Wirkung von 6-AN ausgesetzt wurden

Abb. 4 zeigt die Ergebnisse von Untersuchungen, in denen schwangere Tiere einmalig mit einer Dosis von 6-AN am Tag 14 der Schwangerschaft behandelt wurden.

Da dieses Entwicklungsstadium nicht mehr empfindlich zur Auslösung grober Mißbildungen ist, ergab die am Tag 18 der Schwangerschaft vorgenommene Sektion weder Mißbildungen noch eine signifikant gesteigerte Rate der Fetomortalität (ZENS, 1975).

Allerdings fiel eine beträchtliche Wachstumsretardierung auf (ZENS, 1975 - Tab. 5 dieser Arbeit). Wenn solche Tiere werfen, kann eine hohe perinatale Mortalität verglichen mit der Kontrollgruppe festgestellt werden. Eine Behandlung mit 6-AN während des letzten Schwangerschafts-Drittels vermindert also die Chancen des postnatalen Überlebens drastisch.

Am ersten Tag nach der Geburt konnte die Sterblichkeit nicht sicher erfaßt werden. Bei dem gewählten Vorgehen imponiert die höchste Sterblichkeitsrate am 2. Tag nach der Geburt.
Sehr wenige Neugeborene sterben zwischen Tag 4 und Tag 7 post natum und alle Jungtiere, die am Tag 8 noch am Leben sind, sterben bis zum 30. Lebenstag nicht mehr.

Ein etwas abweichendes Ergebnis erhält man, wenn die Föten mit 6-AN in utero am Tag 15 der Schwangerschaft behandelt werden (s. Abb. 5). Die kumulative Mortalität nivelliert sich bereits am Tag 3 nach der Geburt; bis zu diesem Zeitpunkt sind nur 30% der Jungtiere verstorben.

Offensichtlich interferiert die 6-AN-Behandlung während des letzten Entwicklungsstadiums mit den Reifungsvorgängen, die ein postnatales Überleben sicherstellen sollen.

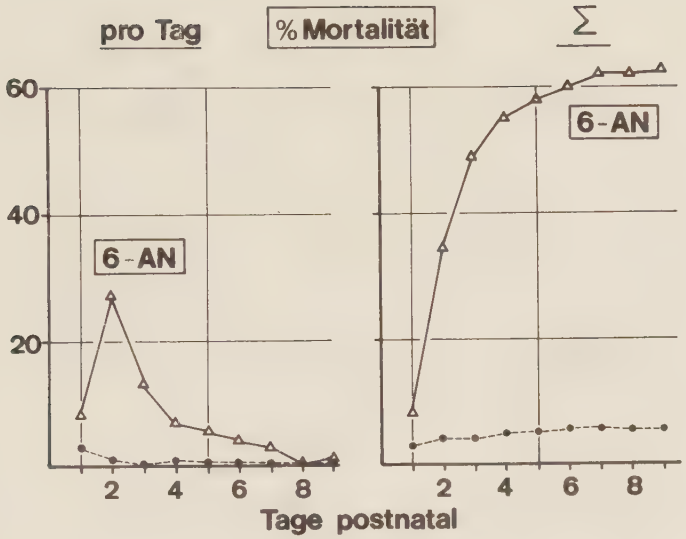


Abb. 4 :

(Versuchsreihe II.4.1)

Postnatale Mortalität von Jungtieren, deren Mütter während der Schwangerschaft einmalig mit 1omg /kg 6-AN behandelt wurden. Die punktierte Linie zeigt die Mortalität der Kontrollgruppe.
Behandlung am Tag 14 der Schwangerschaft.
100% = 231 Kontrollen bzw. 149 behandelte Tiere.
Der Prozentsatz wurde bezogen auf die Anzahl von Neugeborenen, die am 1. Lebenstag erfaßt werden konnten. Kurz nach der Geburt aufgefressene Tiere gehen in die Berechnung nicht ein.

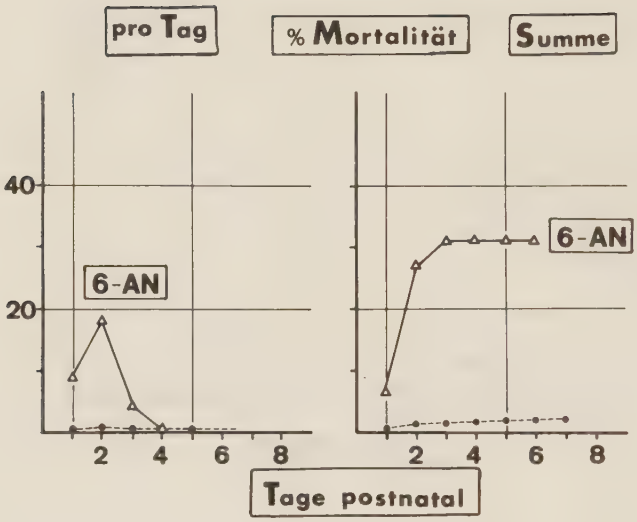


Abb. 5 :

(Versuchsreihe: II.4.2)

Postnatale Mortalität von Jungtieren, deren Mütter während der Schwange
schaft einmalig mit 10mg /kg 6-AN behandelt wurden. Die punktierte
Linie zeigt die Mortalität der Kontrollgruppe.
Behandlung am Tag 15 der Schwangerschaft.
100% = 209 Kontrollen bzw. 178 behandelte Tiere.
Links: Mortalität an dem betreffenden Tag postnatal
Rechts: kumulative Mortalität

Zwei Beobachtungen sind in diesem Zusammenhang von Bedeutung:

1) Da die Überlebensrate nicht größer ist, wenn die Neugeborenen sofort zu einer nicht mit 6 - AN behandelten Amme gebracht werden, kann geschlossen werden, daß der Defekt im Fetus selbst zu suchen ist.

2) Die Retardierung ist nicht so ausgeprägt, daß grundsätzlich eine drastische Beeinträchtigung der Überlebenschancen zu erwarten wäre. Obwohl sie ein sehr ähnliches Ausmaß der Retardierung aufweisen, sterben einige der Neugeborenen, während andere überleben.

Diese Daten zeigen, daß die Behandlung sicherlich einen fetotoxischen Effekt hat, grobe Mißbildungen lassen sich jedoch nicht erkennen.

5.5. MESSUNG LOKOMOTORISCHER AKTIVITÄTEN

(Versuchsreihe: II. 5)

5.5.1. Vorbemerkungen

Für die Bearbeitung zahlreicher biologischer und psychologischer Fragestellungen, insbesondere in der Arzneimittelforschung, sind objektive Messungen der motorischen Aktivität von Versuchstieren, vor allem von Ratten und Mäusen, erforderlich.

Bei der Prüfung zentralwirksamer Stoffe hat stets die Motilität von Kleintieren interessiert. Im Laufe der Forschung wurden von der Wissenschaft, insbesondere der Pharmakologie und Toxikologie vielfältige Methoden zur Messung der Motilität entwickelt. Folgende Prinzipien der Motilitätsmessungen seien an dieser Stelle besonders hervorgehoben:

Zur Registrierung der Motilität benutzte FORST (1938, 1939) berußte Platten, die durch die Mäuse zerkratzt wurden. Bei seinen späteren Untersuchungen wendete FORST eine besondere Vorrichtung, bestehend aus einem Kippteller mit einer rotierenden Kugel, die Kontakte am Rande des Tellers schließt, an. Der sogenannte Zitterkäfig wurde erstmalig von SCHLAGINWEIT (1928) eingesetzt. Dieser Zitterkäfig wurde an einer Spiralfeder aufgehängt; die Übertragung der Bewegung erfolgte auf eine Rußkurve. KUNZ (1956) setzte eine besondere Art des Zitterkäfigs ein. Durch die Schwingung des Käfigs wird eine Elektrode in eine Schwefelsäurelösung eingetaucht; die dabei entstehende Wasserstoffbildung durch Elektrolyse der Lösung wird als Maß der Motilität angewendet.

VATTER (1965) klassifizierte die Systeme der Zitterkäfige wie folgt:

" a) Käfige mit direkter mechanischer Registrierung der vom Tier verursachten Käfigbewegung,

b) Vorrichtungen, bei denen die Bewegung des Käfigs einen elektrischen Kontakt öffnet und schließt,

c) Vorrichtungen mit elektrodynamischer,

d) mit elektrostatischer,

e) mit hydraulischer oder pneumatischer Erfassung der vom Tier angewendeten Bewegungsenergie."

SCHOLZ (1952) gebraucht die Bewegung einer Kugelkalotte auf einer Gummiembran, welche ein Pendel auslenkt, das an der Ringplatte eines beweglichen Dreifußes Kontakt auslöst.

SCHAUMANN und STOEPPEL (1961) setzten eine fotographische Registrierung ein. FRIEBEL (1959) benutzte Fotozellen zur Registrierung der Motilität von Mäusekollektiven.

CORTI et al. (1961) entwickelten eine Methode, bei der Körpererschütterung (Haltetonus) mit Hilfe eines sogenannten Reaktionstisches, der mit einem Direktschreiber verbunden ist, gemessen wird. Diese Meßanordnung ist speziell für Hirnreizversuche bei mittelgroßen Tieren (Katze) bestimmt, wo sie in Ergänzung zu Filmaufnahmen dient. SPENGLER und CORTI (1961) ergänzten diesen Reaktionstisch mit zwei elektronischen Waageeinheiten, die fortlaufend die Wasseraufnahme und Futteraufnahme registrieren. SPENGLER berichtet über Versuche mit Ratten, die mit Substanzen von Amphetamintyp behandelt wurden. Dies führte zu einer psychomotorischen Erregung. Aus den Simultankurven läßt sich ablesen, wie lange der Beginn der Nahrungsaufnahme hinausgeschoben wird und bei welchem Aktivitätsgrad der Hunger überhand nimmt.

SCHREIBER (1965) entschied sich, die Versuchstiere ausschließlich visuell zu beobachten und diese Beobachtung in bestimmter Weise zu notieren und auszuwerten. Bei dieser Versuchsanordnung wird jeweils zur vollen Stunde - insgesamt neunmal am Tage - abgelesen; die Mäuse wurden jeweils immer zu zweit gehalten.

CLARK et al. (1970) benutzten sogenannte Aktivitätsboxen, für Tiere jünger als 21 Tage in einer Größe von 16 x 16 x 4 in,, für Tiere älter als 21 Tage in einer Größe von 25 x 25 x 8 in., die Boxen sind in Quadrate eingeteilt. Das Tier wird in die

Mitte der Box gesetzt, dann werden die Quadrate, die es innerhalb von 5 Minuten betritt, gezählt.

ÜBERSICHT EINIGER METHODEN DER MOTILITÄTSMESSUNG

Autor	Methode
FORST,(1938, 1939)	Berußte Platten, Kippteller
SCHLAGINWEIT, (1928)	Zitterkäfig
KUNZ et al., (1956)	Zitterkäfig (Wasserstoffbildung als Maß)
ASCHOFF, (1951)	Schwingender Käfig mit mechanischem Gleichrichter
SCHAUMANN et al., (1961)	Fotographische Registrierung
CORTI et al., (1961)	Reaktionstisch mit Filmaufnahme
RICHTER, (1926, 1954)	Lauftrommel
SCHREIBER, (1965)	Visuelle Beobachtung
CLARK et al. (1970)	Zählung von Quadraten, die von den Tieren in einer bestimmten Zeit betreten werden

5.5.2. Die circardiane Periodizität von Mäusen als Testobjekt

Die meisten Organismen im Tier- und Pflanzenreich besitzen eine endogene Periodizität, die nach Art einer selbsterregten Schwingung aufrecht erhalten bleibt und mit fast maschinengleicher Exaktheit vor sich geht, selbst wenn die Umweltfaktoren völlig konstant gehalten werden. Diese Umweltfaktoren nennt ASCHOFF "Zeitgeber". Die endogene Periodizität läßt sich nur mit der Periodizität der Zeitgeber innerhalb gewisser Frequenzgrenzen synchronisieren. Der wichtigste Zeitgeber ist der Hell-Dunkel-Rhythmus . Die Phasen der biologischen Periode können mit Hilfe des künstlichen Licht-Dunkel-Wechsels gegenüber dem natürlichen Tag-Nacht-Wechsel verschoben werden.

ASCHOFF (1964) konnte das Aktivitätenmaximum von Mäusen durch

Beleuchtung während der Nacht und Verdunkelung während des Tages um 12 Stunden verschieben; dadurch erhält man ein Aktivitätsmaximum bei "Tag", eine Ruhepause bei "Nacht". Die so behandelten Mäuse werden als "inverse Mäuse" bezeichnet. ASCHOFF (1960) und auch PITTENDRIGH (1960) erbrachten den Nachweis, daß die Schwingung der biologischen Periodik durch die Selbsterregung und nicht durch die Änderung der Zeitgeber verursacht wird. Da die "Spontan - Periode" nur ungefähr der Länge des natürlichen Tages entspricht, trägt sie nach HALBERG (1959) die Bezeichnung "circadian".

5.5.3 Motilität junger Kontroll - Tiere

(Versuchsreihe: 1.4.1)

Da unser Untersuchungsgegenstand die postnatale Entwicklung ist, untersuchten wir die Motilität bei Jungtieren im Alter zwischen 23 und 29 Tagen; zunächst untersuchten wir den circadianen Rhythmus unseres Mäusestamms unter unseren Umweltbedingungen (Temperatur, Feuchtigkeit etc.). Abb. 6 stellt einen typischen circadianen Rhythmus unserer Jungtiere dar (siehe Methode S. 13).

Aus dieser Abbildung läßt sich entnehmen, daß die Aktivität gegen Ende der Hellperiode beginnt, um ihren Höhepunkt während der Dunkelperiode zu erreichen. Die Aktivitätsperiode ist jedoch durch mehrere Minima und Maxima gekennzeichnet.

In Abb. 7 wird eine Schematisierung des circadianen Rhythmus der Mäuse gezeigt. Ausgehend davon, teilten wir die 24 - Stunden - Perioden in folgende Phasen ein:

a) Phase 0 von 11 - 17 Uhr

b) Phase I von 17 - 24 Uhr

c) Phase II von 24 - 6 Uhr

d) Phase III von 6 - 11 Uhr

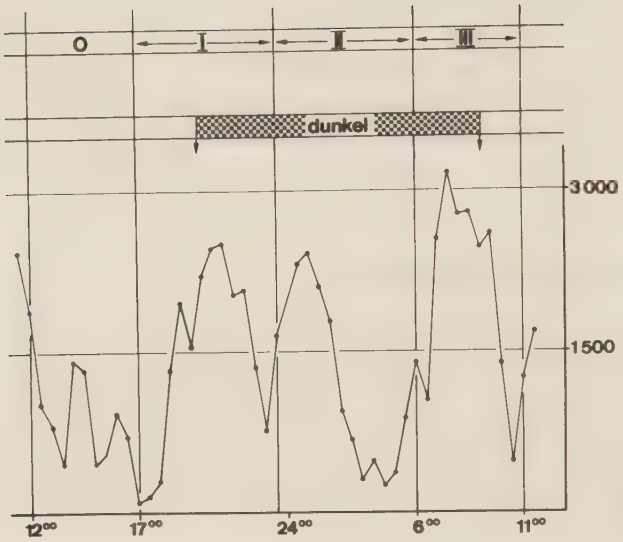


Abb. 6 :

(Versuchsreihe: 1.4.1)

Typisches Beispiel einer circadianen Fluktuation der Bewegungsfrequenz von 23 Tage alten Mäusen. Die rechts angebene Bewegungsfrequenz bedeutet: Zahl der Bewegungen pro 30 Minuten.

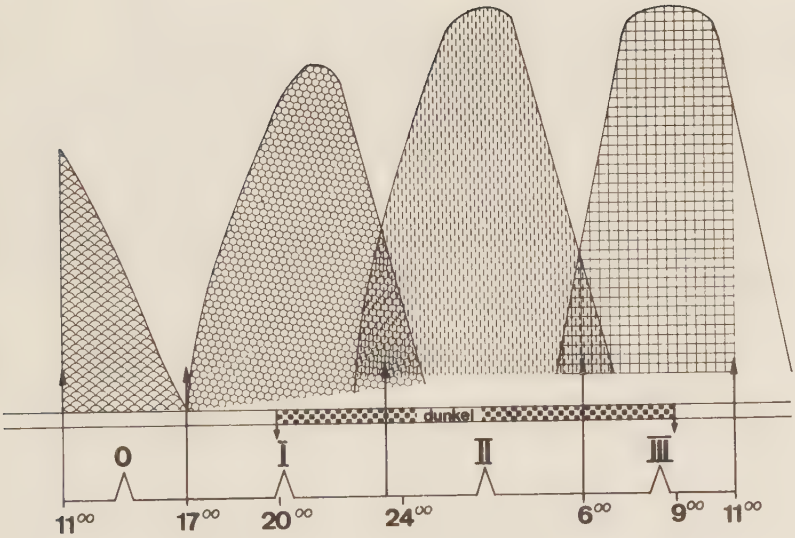


Abb. 7 :

(Versuchsreihe: 1.4.1)

Schematische Darstellung der circadianen Fluktuation der Motilität von Mäusen, wie sie sich aus unseren Messungen ergibt.

Gemessen wurden die Summen der Bewegungen in der betreffenden Phase, bzw. der prozentuale Anteil der Phase an der Summe der Bewegungen pro 24 Stunden.

5.5.4. Motilität erwachsener Tiere unter dem Einfluß von 6 - AN
(Versuchsreihe: II.5.1)

Wir behandelten ein Kollektiv, bestehend aus 7 14-Tage-trächtigen Tieren mit einer einmaligen Dosis von 10 mg/kg/KGw subkutan.

Wie aus Abb. 8 zu entnehmen ist, verläuft die Motilitätskurve von den behandelten Muttertieren und den Kontroll-Muttertieren - letztere wurden mit einer physiologischen Kochsalzlösung behandelt - zunächst fast synchron. In der Ruhepause beginnt dann jedoch bei den 6 - AN behandelten Tieren eine drastische Verminderung der Bewegungsfrequenz, die sich in der Aktivphase fortsetzt; dieser Effekt ist so drastisch, daß die Motilität fast aufhört. Aber trotz der drastischen Verminderung der Aktivität bleibt eine gewisse Schwingung der Periodik aufrechterhalten, die in gewisser Parallelität zur Schwingung der Kontrollgruppe verläuft (besonders zwischen 8.00 und 12.00 Uhr).

Wie aus Tab. 8 hervorgeht, verhält sich die Bewegungsfrequenz zur Kontrolle wie folgt:

a) Phase I von 17 - 24 Uhr 7,3 %

b) Phase II von 24 - 6 Uhr 7,3 %

c) Phase III von 6 - 11 Uhr 14,9 %

Am Tag 2 nach der Behandlung nimmt die Bewegungsfrequenz (s. Abb. 9) im Vergleich zum Tag 1 geringfügig zu, bleibt aber im Vergleich zur Kontrolle sehr vermindert und verhält sich zu ihr wie folgt:

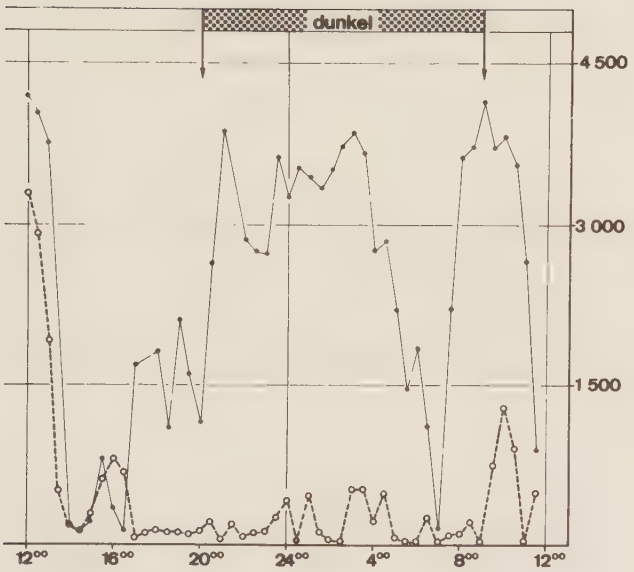


Abb. 8:

(Versuchsreihe: 11.5.1)

Bewegungsfrequenz von 7 erwachsenen Kontrollmäusen (' _____ ') und Mäusen, die um 11.00 Uhr mit einer einmaligen Dosis von 10mg/kg 6-AN s.c. behandelt wurden, (o---------o). Die Summe der Bewegungen der 7 Mäuse wurde aufgezeichnet.

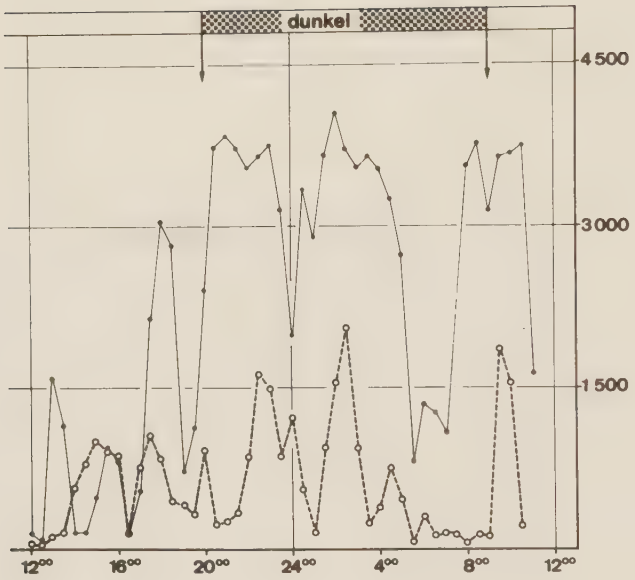


Abb. 9:

Dieselben Tiere wie in Abb. 7 nach einer einmaligen Injektion von 6 - AN (o-----o), Tag 2 nach der Behandlung.

Tab. 8:

Bewegungsfrequenz von schwangeren Tieren. Bei der Kontrolle wurde der Durchschnittswert von vier aufeinanderfolgenden Tagen genommen.

	Phase I	Phase II	Phase III
Kontrolle	38486 ± 4363	36359 ± 1117	25048 ± 2619
	Behandelt mit 6 - AN		
Tag 1	2825	2676	3745
Tag 2	11633	8433	4368
Tag 3	21959	10963	12830
Tag 4	41610	19598	12438

a) Phase I von 17 - 24 Uhr 30,2 %

b) Phase II von 24 - 6 Uhr 23,1 %

c) Phase III von 6 - 11 Uhr 17 %

Am Tag 3 nach der einmaligen 6 - AN Eingabe steigt die Bewegungsfrequenz allmählich wieder an (Abb.10).

Der Vergleich der Bewegungsfrequenz zur Kontrollgruppe ergibt folgende Daten:

a) Phase I von 17 - 24 Uhr 57 %

b) Phase II von 24 - 6 Uhr 28,4 %

c) Phase III von 6 - 11 Uhr 51,2 %

Am Tag 4 nach der Behandlung kommt es in der Ruhepause zu einer überschießenden Reaktion, die ohne Absinken in die Aktivphase übergeht, in der eine Normalisierung eintritt (Abb. 11):

a) Phase I von 17 - 24 Uhr 108 %

b) Phase II von 24 - 6 Uhr 53,9 %

c) Phase III von 6 - 11 Uhr 49,6 %

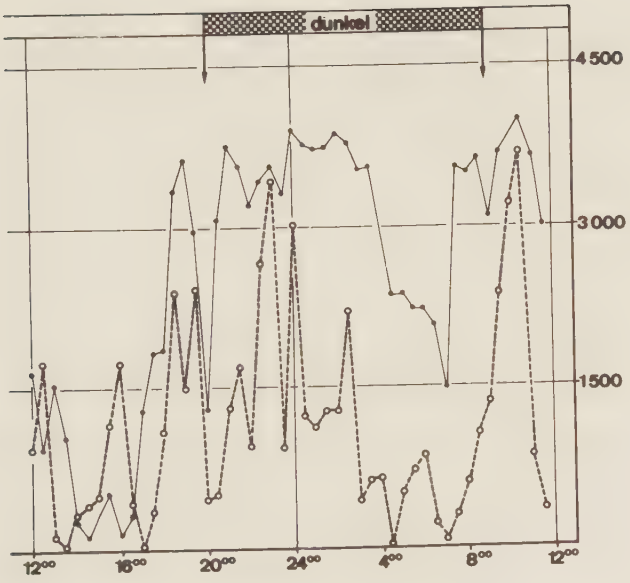


Abb.10:

Dieselben Tiere wie in Abb. 7 nach einer einmaligen Injektion von 6 - AN (o-----o), Tag 3 nach der 6 - AN - Behandlung.

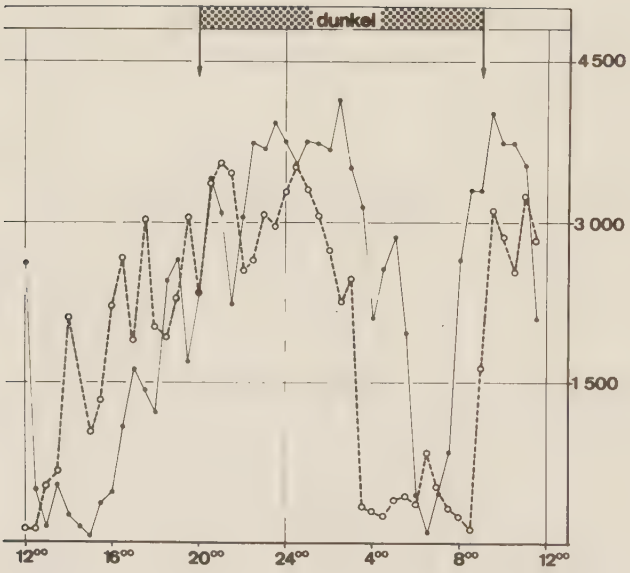


Abb. 11:

Dieselben Tiere wie in Abb. 7 nach einer einmaligen Injektion von 6 - AN (o-----o), Tag 4 nach der 6 - AN - Behandlung.

5.5.5. Motilität von Jungtieren, deren Mütter im letzten Drittel der Schwangerschaft mit 6-AN behandelt wurden

(Versuchsreihe: II.5.2)

Da die Motilität als ein Parameter einer ZNS-Wirkung gelten kann, untersuchten wir die Motilität von Jungtieren, die in utero mit einer einmaligen Dosis von 6-AN behandelt wurden. Für diesen Zweck wurden jene überlebenden Jungtiere aus den vorher dargestellten Versuchen - und zwar immer solche Würfe,die aus 7 Jungtieren bestanden - auf ihre Motilität untersucht.

Wie Tab. 5 zu entnehmen ist, kann keine Differenz im Wachstum zwischen den 22 Tage alten Jungtieren aus der Kontrollgruppe mit den in utero behandelten Jungtieren festgestellt werden. Auch die anderen Kriterien der Entwicklung , wie z.B. die Augenöffnung welche bei beiden Gruppen zwischen Tag 12 und 14 eingetreten war, sowie das Erscheinungsbild als auch die visuelle Beobachtung des Verhaltens ließen keine auffallenden Unterschiede erkennen.

Bezüglich der Motilität ist ein typisches Bild behandelter Jungtiere in Abb.12 festgehalten. Auf den ersten Blick läßt dieses Bild keinen wesentlichen Unterschied hinsichtlich des Verhaltens gegenüber nichtbehandelten Jungtieren (Abb.6) erkennen.

Aber der Versuch ermöglicht eine quantitative Überprüfung der Bewegungsfrequenz während verschiedener Perioden des Tages. Das allgemeine schematisierte Muster des circadianen Rythmus kann der Abb.7 entnommen werden. Die quantitative Analyse der Bewegungsfrequenz ist an den Kontrolltieren der Abb.13 ersichtlich.

Die Schwankungen sind besonders hoch während der Phase o zu Beginn der 24-Stunden-Periode. In der Phase I und II sind sie viel geringer und besonders niedrig in der Phase III, nämlich ca. 15% (Abb.13).

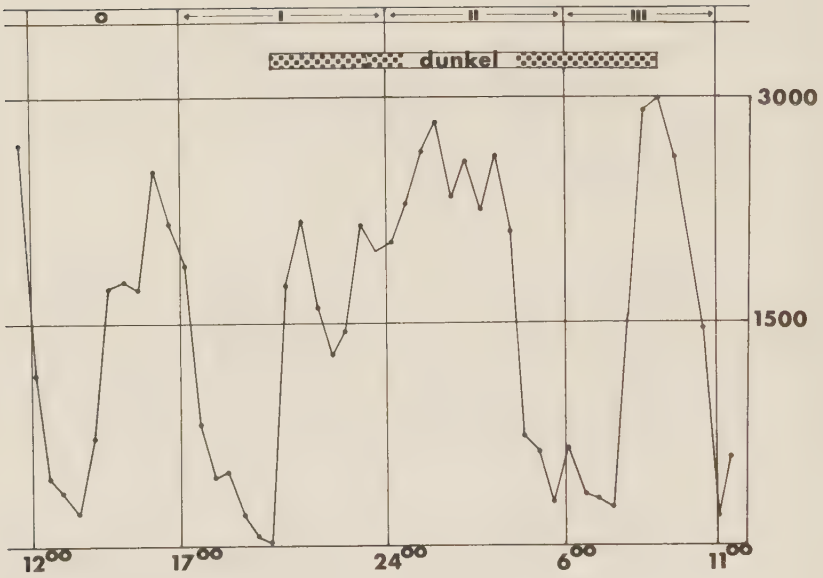


Abb.12 :

Typisches Beispiel einer circadianen Fluktuation der Bewegungsfrequenzvon 23 Tage alten Mäusen, die in utero der Wirkung von 6-AN ausgesetzt wurden. Die Muttertiere wurden am Tag 15 der Trächtigkeit mit 10mg /kg 6-AN s.c. behandelt.

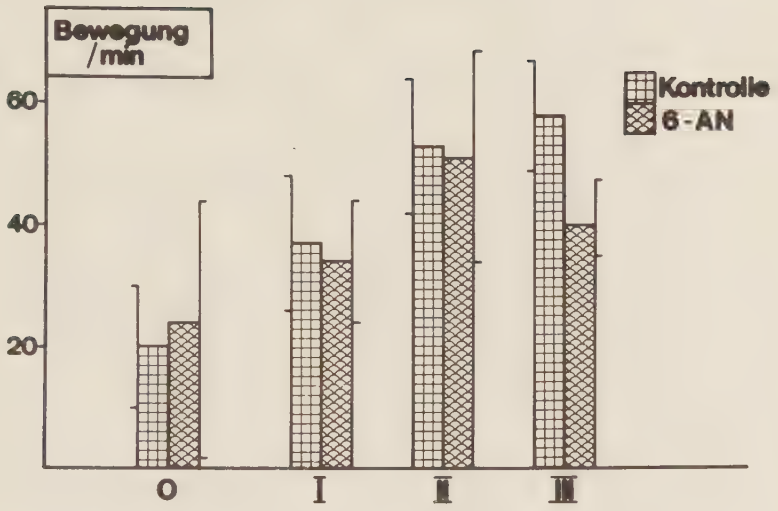


Abb.13 :

Quantitative Auswertung der Bewegungsfrequenz von 22 - 30 Tage alten Kontrollmäusen und der Nachkommenschaft von Mäusen, die am Tag 15 der Schwangerschaft mit 10 mg/kg 6-AN s.c. behandelt wurden.

$\bar{x} \pm s$ von 5 Kontrollwürfen (jeweils 7 Mäuse) und von vier in utero mit 6 - AN behandelten Würfen. Für die Erklärung der Intervalle 0 - III s. Abb. 6.
Die Differenz in der Phase III ist signifikant ($P < 0,01$). Dieses Ergebnis wurde durch de Anwendung des t-Testes ermittelt.

Unter Berücksichtigung der Bewegungsphasen zeigt die in Abb. 13 dargestellte Frequenz deutliche Unterschiede der Behandlungsgruppe in der Phase III.

Ausgehend von diesen Ergebnissen sind in der Motilität zwischen mit 6-AN behandelten Tieren und der Kontrollgruppe deutliche Unterschiede sichtbar.

Die Bewegungsfrequenz in der Phase III des circadianen Rythmus beträgt bei den mit 6-AN behandelten Tieren durchschnittlich nur 70 % der Kontrolltiere.

Die Beurteilung bestimmter Motilitätsphasen innerhalb des circadianen Rythmus erlaubt es, bei den scheinbar unauffälligen 6-AN Tieren einen deutlichen Effekt nachzuweisen.
Die Reproduzierbarkeit unserer Messungen wird durch den folgenden Befund dokumentiert.

In unserem Muster erscheint das Minimum der Bewegungsfrequenz in unserem Hell - Dunkel - Rythmus um 6 Uhr morgens. Dieses Minimum ist sehr eindeutig.

Abb. 14 zeigt ein solches Muster, welches aus Ergebnissen von drei verschiedenen Gruppen junger Mäuse zusammengestellt wurde.

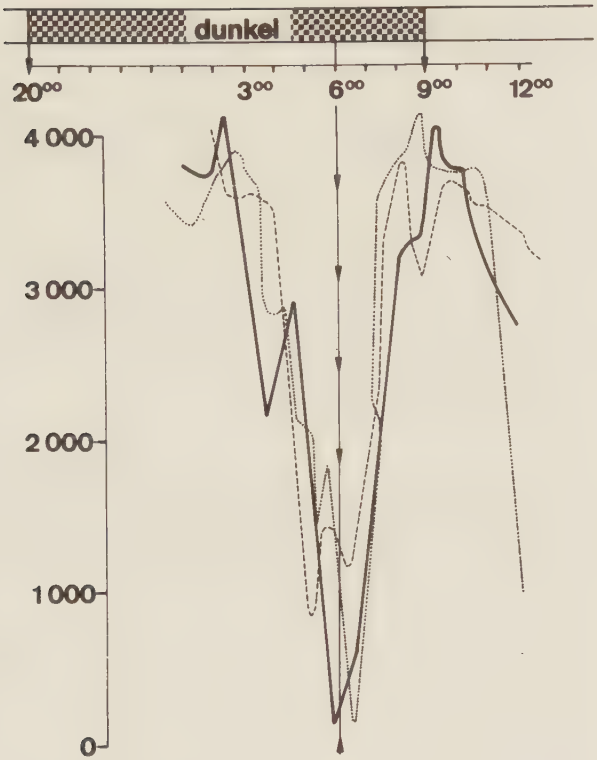


Abb. 14:

Bewegungsfrequenz von 22 - 30 Tage alten Mäusen um das "6.00 Uhr Minimum" herum. Dargestellt sind drei verschiedene Untersuchungsserien. Die gute Reproduzierbarkeit ist offensichtlich. Angegeben sind die Resultate halbstündiger Messungen.

6. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der postnatalen Entwicklung sowie gewisser Verhaltensparameter von Mäusen.

Mit Hilfe dieser Untersuchung soll die Möglichkeit geschaffen werden, Antwort auf die Frage zu finden, inwieweit funktionelle Störungen (reversibel oder irreversibel) bei Neugeborenen durch pränatal einwirkende Noxen, die sich unter Umständen erst postnatal auswirken, auszulösen sind.

Der Wachstumsprozeß, der von L. VON BERTALANFFY (1957) als "... Größenzunahme eines lebenden Systems, die daraus resultiert, daß der Aufbau von Bestandteilen deren Abbau überwiegt", definiert wurde, hat eine zentrale Bedeutung bei der Beurteilung der allgemeinen postnatalen Entwicklung.

Bei unseren Untersuchungen stellten wir fest, daß die Gewichtsentwicklung - ein relevanter Faktor des Wachstums - wesentlich von der Wurfgröße abhängt.

Bei einer Untersuchung der postnatalen Entwicklung muß dieses Problem der unterschiedlichen Wurfgrößen irgendwie gelöst werden. Dies könnte - einem Vorschlag von GESTRICH (1972) folgend - z.B. durch eine Reduzierung der Würfe auf eine gleiche Größe geschehen. Wir halten ein solches Vorgehen jedoch bei der Beurteilung des Gewichtsverlaufes nicht für günstig. Eine etwa vorhandene postnatale Mortalität würde die Situation zudem weiter komplizieren.

Wir halten es für günstiger, wenn die Gewichtsentwicklung getrennt nach den Wurfgrößen verfolgt wird. Stirbt ein Jungtier postnatal, so kann dies leicht bei der Beurteilung der Gewichts-

entwicklung berücksichtigt werden.

Interessant ist die Verminderung der Wurfgröße nach Behandlung mit 6-AN. Aus 23 Kontroll-Würfen mit 228 Neugeborenen ergibt sich (Daten der Tab. 4) eine mittlere Wurfgröße von 9,9.Nach einer Behandlung mit 6-AN am Tag 14 der Schwangerschaft ist die Wurfgröße nur 6,8 (d.h. 69% der Kontrollen) und sie erreicht bei Behandlung am Tag 15 mit 7,7 nur 78% der Kontrollwerte. Da ZENS (1975) unter vergleichbaren Bedingungen bei der Sectio am Tag 18 der Schwangerschaft keine wesentliche Erhöhung der Resorptions- bzw. Absterberate fand, liegt der Schluß nahe, daß ein erheblicher Prozentsatz der Neugeborenen bereits am 1. Tag nach der Geburt oder bei der Geburt verstorben ist und - wie das bei Mäusen und Ratten üblich ist - vom Muttertier aufgefressen wurde. Ob es sich hierbei um besonders retardierte Tiere gehandelt hat, ist nicht zu entscheiden.
Die von uns beobachtete nahezu vollständige Kompensation der Gewichtsretardierung bei den 6 - AN behandelten Tieren innerhalb von zwei Wochen postnatal ist sicher kein universelles Phänomen. Bei anderen embryotoxischen Substanzen - z.B. beim Cyclophosphamid - haben wir festgestellt, daß die Wachstumsretardierung praktisch nie aufgeholt wird. Es resultieren in diesem Fall letztlich "Zwerge" auch im Erwachsenenalter.

Es ist in diesem Zusammenhange interessant, daß bei Untersuchungen, die CLARK et al. (1970) mit Ratten durchführten, d - Amphetaminsulfat keine Gewichtsretardierung hervorrief, obgleich andere Effekte - wie z.B. eine Verminderung der Motilität bei den Jungtieren - durchaus beobachtet werden konnten.

Man kann daraus den Schluß ziehen, daß eine embryotoxische Substanz gewisse Aspekte der Entwicklung beeinträchtigt, ohne jedoch zwangsweise andere in Mitleidenschaft zu ziehen.

Die spontane Aktivität ist eine Instinkthandlung, die einer ererbten Gesetzmäßigkeit folgt, deren Art, Ausmaß und zeitliche

Verteilung zu den charakteristischen Eigenschaften eines Tieres gehören. Dies gilt insbesondere für den periodischen Wechsel zwischen Ruhe und Aktivität. Das Zentralnervensystem entscheidet über die Intensität und das Aktivitätenmuster sowie deren Veränderung (ASCHOFF, 1955, 1959). Darüberhinaus soll auch die Menge der innerhalb einer Zeiteinheit entwickelten Aktivität vorgegeben sein (ASCHOFF, 1962).
Die Art und Weise eines Aktivitätenmusters richtet sich jedoch nach den jeweiligen Begleitumständen sowohl des Tieres als auch seiner Umwelt, d.h. unter bestimmten Bedingungen tritt ein bestimmtes Muster auf.

Die von uns angestellten Versuche mit 6-AN haben zwei interessante Resultate ergeben: Einmal kann ein maternaler Effekt nicht vernachlässigt werden.Die Muttertiere zeigen etwa vier Tage lang nach einer einmaligen Dosis ein abnormes Verhalten. Die in der letzten Schwangerschaftsphase eintretende Wachstumsretardierung kann daher sowohl die Folge einer direkten Schädigung des Feten durch 6-AN sein als auch das Resultat einer maternalen Schädigung. Die beobachtete erhöhte perinatale Sterblichkeit bei den Tieren, die in utero der Wirkung von 6-AN ausgesetzt waren, ist zum Teil sicher die Folge der Gewichtsretardierung.
Wir haben es inzwischen gelernt, die Schwangerschaft durch Gabe von Progesteron künstlich zu verlängern. Es wird daher interessant sein zu untersuchen, ob die erhöhte perinatale Mortalität bestehen bleibt, wenn der Geburtstermin nach einer Gabe von 6-AN um 1-2 Tage herausgezögert wird, die Tiere durch Kaiserschnitt entbunden und von Ammen aufgezogen werden.

Bei der Beurteilung der Motilität kann auch bei den in utero behandelten Nachkommen ein deutlicher Effekt nachgewiesen werden. Die Tatsache, daß zwischen den in utero mit 6-AN behandelten Jungtieren und der Kontrolle ein quantitativer Unterschied der Aktivität nur in Phase III und kein Unterschied im Aktivitätsmuster selbst festzustellen war, weist darauf hin, daß zu einer genaueren Analyse der Motilität unbedingt das Muster sowie die Quantität der Aktivität herangezogen werden sollten.

Die Analyse des circadianen Rythmus der lokomotorischen Aktivitäten muß in Zusammenhang mit den bekannten Ergebnissen der Tierversuche (ASCHOFF, 1964; NEUBERT, 1976) und der Humanmedizin (HELLBRÜGGE, 1965; SOUKUPOV,1965; ELLIOT, 1976) gesehen werden. Zur Bedeutung der Tagesperiodik bemerkt ASCHOFF (1964): "Man kann ohne Übertreibung behaupten, daß es kein Experiment gibt, in dem die Tagesperiodik keine Rolle spielt."

Um die gesamte Tragweite der embryotoxischen Noxen zu erfassen, muß das Spektrum der Methoden zur Analyse der postnatalen Entwicklung noch wesentlich erweitertwerden. Die hier erfaßten postnatalen Parameter stellen natürlich erst eine erste Auswahl bei der Beurteilung pränatal ausgelöster Schädigungen dar, die sich erst postnatal manifestieren.

7. ZUSAMMENFASSUNG

I. Zum Studium der postnatalen Wachstumsentwicklung wurde der Zusammenhang zwischen Gewicht und verschiedenen anderen Faktoren bei NMRI-Mäusen geprüft.

Die Ergebnisse können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

a) Bei einem Austausch der Muttertiere (Ammen-Aufzucht) kann keine signifikante Beeinflussung des Wachstums der Jungtiere festgestellt werden.

b) Die Gewichtsentwicklung der Jungtiere ist sehr wesentlich von der Wurfgröße abhängig. Daher können für den Wachstumsvergleich zwischen verschiedenen Gruppen - dies betrifft sowohl die behandelten Jungtiere wie auch die Kontrolle - nur gleichgroße Würfe verwendet werden.

c) Die am Tag 14 oder 15 der Schwangerschaft in utero einmalig behandelten Jungtiere zeigen ein um 30% vermindertes Geburtsgewicht. Dies wird innerhalb von zwei Wochen kompensiert.

d) Im Vergleich zur Kontrolle zeigen die in utero am Tag 14 oder 15 mit 6-AN behandelten Jungtiere eine hohe Mortalität, insbesondere in den ersten 24 Stunden nach der Geburt, nach Tag 8 sterben keine Tiere mehr. Die Überlebenschance kann auch nicht gesteigert werden, wenn die Tiere sofort zu einer Amme gebracht werden.

e) Das Augenöffnen findet am Tag 13 -14 nach der Geburt gleichzeitig bei den behandelten Tieren und der Kontrolle statt; letzteres stimmt mit der Kompensierung der Gewichtsentwicklung dieser Zeit überein.

II. Beim Studium der Motilität des NMRI-Mäusestamms bei einem bestimmten Hell - Dunkel - Rythmus (9 -20 Uhr hell, 20 - 9 Uhr dunkel) können folgende Ergebnisse zusammengefaßt werden:

a) Die motorische Aktivität der Mäuse zeigt einen typischen circadianen Rhythmus mit mehreren Minima und Maxima. Die 24 - Stundenperiode kann in vier verschiedene Phasen unterteilt werden.

b) Die mit 10 mg/ kg 6-AN s.c. im letzten Drittel der Schwangerschaft behandelten Muttertiere zeigen eine vier Tage andauernde Verminderung der Aktivität, die am 1. und 2. Tag besonders drastisch ist.

c) Die Motilität der Jungtiere, die in utero mit 6 - AN behandelt wurden, zeigen in ihrem Aktivitätsmuster keinen wesentlichen Unterschied zur Kontrolle. Bei einer quantitativen Analyse der Phase III (6.00 - 11.00Uhr) stellten wir fest, daß die Bewegungsfrequenz der behandelten Tiere im Durchschnitt nur 70 % der Kontrollgruppe ausmacht. Diese Differenz ist statistisch signifikant.

SUMMARY

1. In order to investigate post natal growth development the relation between weight and various other factors of NMRI-Mice has been examined.

The results can be summarized as follows:

a) By exchange of the dams (breeding by nurses) no significant influence on the growth of the newborn animals could be detected.

b) The weight development of the animals essentially depends on the number of fetuses per litter. Therefore, for comparision of growth between different groups only litters of equal size can be compared. This applies to treated young animals as well as to controls.

c) The animals having received a single treatment on day 14 or 15 of pregnancy in utero show a birth weight reduced by 30% . It will be compensated within 2 weeks.

d) In comparison to controls, the animals treated in utero with 6-AN on day 14 or 15 show a high mortality, especially during the first 24 hours after birth, on day 8 no more animals die. The chance of survival can also not be increased if the animals are brought to a nurse immediately.

e) Opening of the eyes takes place on day 13 - 14 after birth simultaneously with both, the treated animals as well as the controls. This corresponds with the compensation of the weight development during that time.

II. Studying the motility of the NMRI mouse strain at a fixed light-dark-rhythm (9^{oo} - 20^{oo} h light, 20^{oo} - 9^{oo} h dark) the following results can be summarized:

a) The motor activity of the mice shows a typical circadian rhythm with several minima and maxima. The 24 hour period can be divided into four different phases.

b) The dams treated with 10 mg/ kg 6-AN s.c. during the last third of pregnancy show a decrease of activity which persists during 4 days and is especially drastic on the first and on the second day.

c) The young animals treated in utero with 6 - AN do not show significant difference in their activity pattern when compared with controls. In the course of a quantitative analysis of phase III (6^{oo} - 11^{oo} h) we found that the frequency of motility of the treated animals on average only amounts to 70 % of the control group. This difference is statistically significant.

8. LITERATUR

ASCHOFF, J., 1951 — Messung der lokomotorischen Aktivität von Mäusen mittels mechanischen Gleichrichter. Pflügers Archiv, 254, 262 - 266

ASCHOFF, J., 1960 — Exogenous and Endogenous Components in Circadian Rhythms. Cold spring Harbor symp. Quant. Biol., 25, 11 - 28

ASCHOFF, J., 1962 — Spontane lokomotorische Aktivität. Hdb. d. Zoologie, 8, 11 (4), 1 - 74

ASCHOFF, J., 1964 — Die Bedeutung der Tagesperiodik für Tierhaltung und Tierexperiment. Beihefte zur internationalen Zeitschrift für Vitaminforschung, Nr. 9, 43 - 65

ASCHOFF, J. and WEVER, R., 1976 — Human Circadian Rhythms: A multioscillatory system. Federation Proc. 35, 2326 - 2332

BÄTTIG, K. und GRANDJEAN, E. 1958 — Wechselbeziehungen zwischen Wachstum und Anbahnung einer bedingten Fluchtreaktion bei der Ratte. Helv. Physiol. acta, 16, 1 - 11

BARRACH, H.-J., 1973 — Untersuchungen über die Aktivität einiger Fermente des oxidativen Teils des Pentose - Phosphate - Weges im embryonalen Säugetiergewebe und die Beeinflussung durch 6 - Aminonicotinamid. Berlin FU Med. Diss.

BERTALANFFY VON, L., 1957 — Wachstum. Hdb. d. Zoologie, 8, 4 (6), 1 - 68

BRUNNEMANN, A., COPER, H., 1963 — Pharmakologische und biochemische Eigenschaften des 6 - Aminonicotinamids. Naunyn - Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak., 246, 63.

BRUNNEMANN, A., COPER, H., 1964 — Biosynthese und Wirkung des 6 - Aminonicotinamid - adenindinudeotids. Naunyn - Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak., 246, 437 - 451

CHAMBERLAIN, J.G., 1966 — Development of Cleft Palate Induced by 6 - Aminonicotinamide late in Ratfestation. Anat. Record, 156, 31 - 40

CLARK, C.V.H. et al.,1970 — Effects pf Prenatal Administration of Psychotrapic Drugs on Behavior of Developing Rats. Developmental Psychobiology, 3 (4), 225 - 235

COPER, H. und NEUBERT, D., 1964

Einfluß von NADP - Analogen auf die Reaktionsgeschwindigkeit einiger NADP - bedürftiger Oxydoreduktasen

Biochim. Biophys. acta, 89, 23 - 32

COPER, H., HANELASS, H. und LISON, H., 1966

Untersuchungen zum Mechanismus zentralnervöser Funktionsstörungen durch 6 - Aminonicotinamid

Naunyn - Schmiedeberg's Arch. Pharmak. u. exp. Path., 255, 97 - 106

COPER, H., LISON, H., ROMMELSPACHER, H., SCHULZE, G. and STRAUSS, S., 1971

The Influence of Adrenegic Receptor - Blocking Agents, Amphetamin, and 6 - Aminonicotinamide on Thermoregulation

Naunyn - Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 270, 378 - 391

CORTI, V.A., HUMSPERGER, R.W., und WYSS, C.A.M., 1962

Registrierung der vertikalen Kraftkomponente der endogenen Körpererschütterung (Haltetonus). Reaktionstisch für Tierversuche

Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, 274, 95.

DOBBING, J., 1968

Vulnerable Periods in Developing Brain

Davison, A.N. Dobbing (Eds.) Applied Neurochemistry Oxford: Blackwell

ELLIOT, D., WEITZMAN, M.D., 1976

Circadian Rhythm and Episodic Hamone Secretion in Man

Annual Review of Medicine, 27 225 - 243

FORST, A. W., 1938

Demonstration einer Apparatur zur Messung sedativer Wirkung

Archiv für exper. Path. Pharmakol., 190, 231.

FORST, A.W., 1939

Morphin und Dihydrodesoxymorphin, verglichen mittels einer neuen Methode der Motilitätsmessung

Archiv für exper. Path. Pharmakol., 192, 257 - 270

FRIEBEL, H., SOMMER, S. und VARADEN, K. S., 1959

Eine photoelektrische Methode zur Messung lokomotorischer Aktivität

Arzneim. - Forsch., 9, 126 - 127

Gesellschaft für Versuchstierkunde, 1971

Planung und Errichtung von Versuchstierbereichen tierexperimentell tätiger Institutionen.

GESTRICH, R., 1972 — Untersuchungen zur Gewichtsentwicklung und Körperzusammensetzung der Maus. Berlin FU Vet.med. Diss.

GÖSSWALD, R., 1963 — Der Tag- und Nachrhythmus von Mäusen als pharmakologisches Testobjekt. Medizin und Chemie, 7, 189-196

GÖSSWALD, R., LETTAU, E., MENNECKEN, W., 1966 — Automatische Registrierung der Motilität von Mäusen. Arzneim.-Forsch., 16, 656 - 658

GROLLMANN, A., GROLLMANN, E. F., 1962 — Teratogenic Induction of Hypertension. J. Clin. Invest., 41, 710 - 714

HAGEMANN, E., SCHMIDT, G., 1960 — Ratte und Maus: Versuchstiere in der Forschung. Walter de Cruyter u. Co., Berlin

HALBERG, Fr., 1960 — Temporal Coordination of Physiological Function. Cold Spring Harbor symp. Quant. Biol., 25, 289 - 310

HELLBRÜGGE, Th., 1965 — Entwicklung der Tag - Nacht - Periodik im Kindesalter. Wiss. Z. Humboldt - Univ. - Berlin, Mat. - Nat., R. 14, 263 - 275

HERBST, A. L., KURMAN, R., SCULLY, R.E. and POSKANZER, D. C., 1972

Clear - cell Adenocarcinoma of the Genital Tract in Young Females

New Engl. J. med., 287, 1259 - 1264

HERKEN, H., 1968

Mechanism of Action of Drug Toxicity

proc. 3rd intern. Pharmacological Meeting, Pergamon press, Oxford - New York, 4, 3

HERKEN, H. and LANGE, K., 1969

Blocking of Pentose - Phosphate Pathway in the Brain of Rats by 6 - Aminonicotinamide

Naunyn - Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path., 263, 496 - 499

HERKEN, H., LNAGE, K. and KOLBE, H., 1969

Brains disorcles induced by pharmacological blockade of the pentose phosphate pathway

Biochem. Biophys. Res. Commun, 36, 93 - 100

JOHNSON, W. J., and McCOLL, J. D., 1955

6 - Aminonicotinamide - a potent nicotinamid antagonist

Sciens, 122, 834.

JOHNSON, W. J. and McCOLL, J. D., 1956

Antimetabolite activity of 6 - Aminonicotinamide

Federation proc , 15,284.

JUNG, S., 1958

Zucht und Haltung der wichtigsten Laboratoriums - Versuchstiere

VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

KUNZ, W., KELLER, H., MÜCKTER, M., 1956

N - phtalyl - glutaminsäure - imid Experimentelle Untersuchungen an einem neuen synthetischen Produkt mit sedativen Eigenschaften

Arzneim. - Forsch., 6, 426 - 430

LANGMAN, J., SHIMADA, U., RODIER, P., 1972

Floxuridine and its influence on postnatal cerberdar development

Pediat. Res., 6, 758.

LANGMAN, J., RODIER, P., WEBSTER, W., CHOWLEY, K., CARDELL, E. and POOL, R.,1975

The Influence of Teratogens on Cellular and Tissue Behavior during The Second Half of Pregnancy and Their Effect on Postnatal Behavior

New Approaches to the Evaluation of Abnormal Embryonic Development

Edited by D. NEUBERT and H. J. MERKER, S. 434 - 468, Thieme Verlag Stuttgart

MURPHY, M. L., DAGG, C. P., and KARNOFSKY, D. A., 1957

Comparison of Teratogenic Chemicals in the Rat and Chick Embryos

Pediatrics, 19, 701 - 714

NEUBERT, D. and RAUTENBERG, M., 1976 — Activity of nuclear DNA - Dependent RNA Polymerases in Maus Lumb Buds differentiating in Vivo or in Organ Culture. Hoppe - Seyler's Z. physiol - Chem., 357, 1623 - 1635

PITTENDRIGH, C. S., 1960 — Circadian Rhythms and The Circadian Organization of Living Systems. Cold Spring Harbor symp. Quant. Biol., 25, 159 - 184

PITTENDRIGH, C. S., 1961 — On Temporal Organization in Living Systems. The Harvey lectures, Sev. 56, 93 - 125 Academic Press, New York

RICHTER, C. P., and WARY, G. H., 1926 — Measuring Motility. J. Lab. clin. med., 12, 289 - 292

RICHTER, C. P., and UHLENHUTH, E. H., 1954 — Gonadectomy in wild clemisticated Norway rats. Endocrinol., 54, 311 - 322

SCHAUMANN, W., STÖPEL, K., 1961 — Zur quantitativen Beurteilung von zentraler Erregung und Dämpfung im Tierversuch. Arch. exper. Path. Pharmakol., 241, 383 - 392

SCHLAGINWEIT, E., 1928 — Prüfung der sedativen Wirkung im Tierexperiment. Arch. exper. Path. Pharmakol., 131, 212 - 220

SCHOLZ, J., 1952

Motilitätsmessung an Mäusen

Arch. exper. Path. Pharmakol., 216, 211

SCHREIBER, K. G., 1965

Eine einfache Methode der Registrierung motorischer Aktivitäten in Tierversuchen

Arzneim.-Forsch., 15, 934 - 936

SOUKUPOVA, D., HLOUSKOVA, 1965

Tag - und Nachtperiodik einiger Funktionen beim Schulkind

Wiss. Z. Humboldt - Univ. - Berlin, Math. - Nat. R. 14, 277 - 279

SPENGLER, J. und CORTI, V. A., 1962

Gleichzeitige, fortlaufende, quantitative Registrierung von Bewegungsaktivität, Nahrungsaufnahme und Wasseraufnahme bei Ratten mittels Reaktionstisch und elektronischer Waage

Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und des Tieres, 274, 95 - 96

SPYKER, J. M., and SMITHBERG, M., 1971

Effects of Methylmercury on Prenatal Development

Teratology, 5, 181 - 190

SPYKER, J. M., SPARBER, S. B., GOLDBEY, A. M., 1972

Subtle Cosequences of Methylmercury exposure: Behavioral Deviations in Offspring of treated Mothers

Science, 177, 621 - 623

THEILER, K., 1972

The House Mouse: Development and Normal Stages from Fertilization to 4 Weeks of Age

Springer - Verlag, Berlin - Heidelberg - New York

VATTER, O., 1965

Die Messung sedierender Effekte durch automatische Registrierung der Motilität der Maus

Arzneim.-Forsch., 15,
1468 - 1472

WARE, R. A., CHANG, L. W.,
BURKHOLDER, P. M, 1974

Ultrastructural Evidence for Fatal Liver injury induced by in utero exposure to small doses of methylmercury

Nature, 251, 236 - 237

WEIHE, W. H., 1968

Der Milchleistungstest bei Versuchstieren

Z. Versuchstierk. Bd. 10, 147 - 157

ZENS, P., 1975

Untersuchungen über teratogene Wirkungen mehrerer simultan applizierter Pharmaka bei Mäusen

Berlin FU Dent.med. Diss.

LEBENSLAUF

Ich wurde am 15.8.1940 in Latakia, Syrien, als Sohn des Privatangestellten Nicola Chahoud und der Hausfrau Widad Chahoud geboren.

In Syrien habe ich die Volksschule und das Gymnasium besucht. Nach dem Abitur nahm ich das Studium der Veterinärmedizin in Wien, Österreich auf. Nach Abschluß der ersten Staatsprüfung (Prädikat "gut") wechselte ich an die Freie Universität Berlin. 1974 Abschluß der Tierärztlichen Prüfung (Prädikat "gut").

Seit dem 1.9.1974 arbeite ich am Institut für Toxikologie und Embryonal-Pharmakologie der Freien Universität Berlin.

Herrn Prof. Dr. D. Neubert danke ich für die Arbeitsmöglichkeit am Institut für Toxikologie und Embryonal-Pharmakologie zur Durchführung der Untersuchungen sowie für die Übertragung des Themas der Arbeit.
Ihm und Herrn Prof. Dr. N.-C. Juhr, Fachrichtung Versuchstierkunde und Versuchstierkrankheiten, danke ich für die hilfreichen Ratschläge.